白术-木香药对对脾虚腹泻型肠易激综合征大鼠肠道菌群与短链脂肪酸代谢的调节作用Δ

黎豫川[1*]，张远哲[2#]，杨元凤[1]，陈礼大[1]，徐献梅[1]（1.贵州中医药大学第二附属医院药学部，贵阳 550025；2.贵州中医药大学基础医学院，贵阳 550025）

中图分类号 R965；R285　　**文献标志码** A　　**文章编号** 1001-0408（2024）03-0304-07
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2024.03.07

摘　要　目的 探讨白术-木香药对对脾虚腹泻型肠易激综合征（IBS-D）大鼠肠道菌群与短链脂肪酸（SCFAs）代谢的调节作用。**方法** 使用番泻叶灌胃联合束缚刺激构建大鼠脾虚IBS-D模型。将造模成功的大鼠分为模型组、阳性对照组（匹维溴铵1.5 mg/kg）和白术-木香药对低、中、高剂量组（0.7、1.4、2.8 g/kg），每组6只；另取6只健康大鼠作为空白对照组。空白对照组与模型组大鼠灌胃生理盐水，其余各组灌胃相应药液，每天1次，连续14 d。观察大鼠一般状况，并检测粪便含水量；检测大鼠肠道敏感性[以腹壁撤退反射（AWR）阈值评价]和肠道推进率；检测大鼠血清中5-羟色胺（5-HT）、P物质（SP）水平；观察大鼠结肠组织病理变化，检测大鼠结肠组织中5-HT3受体（5-HT3R）、5-HT4受体（5-HT4R）、5-HT转运体（SERT）蛋白表达水平。取空白对照组、模型组和白术-木香药对高剂量组大鼠粪便样本进行16S rRNA测序分析，并检测粪便中乙酸、丙酸、丁酸的含量。**结果** 与模型组比较，白术-木香药对中、高剂量组大鼠给药7、14 d后的体重，粪便含水量，AWR阈值，结肠组织中5-HT4R、SERT蛋白表达水平均显著升高（$P<0.05$或$P<0.01$）；血清中5-HT、SP水平，肠道推进率（白术-木香药对中剂量组除外），结肠组织中5-HT3R蛋白表达水平均显著降低（$P<0.01$）；腹泻缓解，精神状态恢复，结肠组织部分结构恢复；且白术-木香药对高剂量组大鼠肠道菌群的多样性与物种数量有所减少，粪便中丁酸含量显著降低（$P<0.05$）。**结论** 白术与木香配伍可以改善脾虚IBS-D模型大鼠的肠道动力及肠道敏感性，并缓解腹泻，这可能与改善肠道菌群结构变化，降低5-HT表达和丁酸含量以及升高5-HT4R、SERT表达有关。

关键词 肠易激综合征；白术；木香；5-羟色胺；肠道菌群；短链脂肪酸

Regulatory effects of couplet medicinals of *Atractylodes macrocephala-Aucklandia lappa* on gut microbiota and short-chain fatty acid metabolism in the irritable bowel syndrome rat with spleen deficiency and diarrhea

LI Yuchuan[1], ZHANG Yuanzhe[2], YANG Yuanfeng[1], CHEN Lida[1], XU Xianmei[1] (1. Dept. of Pharmacy, the Second Affiliated Hospital of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China; 2. School of Basic Medicine, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To investigate the regulatory effects of couplet medicinals of *Atractylodes macrocephala-Aucklandia lappa* on gut microbiota and short-chain fatty acids (SCFAs) in the diarrhea-type irritable bowel syndrome (IBS-D) rats with spleen deficiency. **METHODS** The IBS-D rat model with spleen deficiency was induced by intragastric administration of *Senna alexandrina* combined with restraint stimulation. The model rats were divided into model group, positive control group (pinaverium bromide 1.5 mg/kg), *A. macrocephala-A. lappa* low-dose, medium-dose and high-dose groups (0.7, 1.4, 2.8 g/kg), with 6 rats in each group. Another 6 healthy rats were taken as the blank control group. The blank control group and the model group were given normal saline intragastrically, and other groups were given relevant drug liquid intragastrically, once a day, for consecutive 14 days. The general characteristics of rats and fecal water content were observed, and intestinal sensitivity [evaluating by abdominal wall withdrawal reflex (AWR) threshold] and the intestinal propulsion rate were determined. The serum levels of 5-hydroxytryptamine (5-HT) and SP were detected, and the pathological changes of colon tissue were observed; the protein expressions of 5-HT-3 receptor (5-HT3R), 5-HT4R and 5-HT transporter (SERT) in colon tissue of rats were detected. 16S rRNA sequencing was performed for the feces of rats in blank control group, model group and *A. macrocephala-A. lappa* high-dose group; the contents of acetic acid, propionic acid and butyric acid in the feces of the rats were determined.

Δ **基金项目** 贵州省科技计划项目（No.黔科合基础-ZK〔2022〕一般467）；贵州省教育厅高等学校科学研究项目（青年项目）（No.黔教技〔2022〕217号）；贵州中医药大学学术新苗项目（No.贵科合学术新苗〔2023〕-37号）

＊ **第一作者** 副主任药师，博士。研究方向：方剂配伍规律及临床应用。E-mail：531533319@qq.com

通信作者 副教授，博士。研究方向：肠道疾病证治与方剂配伍运用。E-mail：357984356@qq.com

RESULTS Compared with the model group, the body weight after 7 and 14 days of medication, fecal water content, AWR threshold, and the protein expressions of 5-HT4R and SERT in colon tissue were increased significantly in the *A. macrocephala-A. lappa* medium-dose and high-dose groups ($P<0.05$ or $P<0.01$); serum contents of 5-HT and SP, intestinal propulsion rate (except for *A. macrocephala-A. lappa* medium-dose group), the protein expression of 5-HT3R in colon tissue were decreased significantly ($P<0.01$); diarrhea relief, mental state recovery, and partially recovery of the structure of colon tissue were all found; moreover, the diversity and species number of gut microbiota were reduced in *A. macrocephala-A. lappa* high-dose group and the content of butyric acid in fecal samples was significantly reduced ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** The compatibility of *A. macrocephala* and *A. lappa* can improve intestinal motility and sensitivity of IBS-D model rats with spleen deficiency, and alleviate diarrhea. This may be related to improving changes in intestinal microbiota structure, reducing 5-HT expression and butyric acid content, and increasing 5-HT4R and SERT expression.

KEYWORDS irritable bowel syndrome; *Atractylodes macrocephala*; *Aucklandia lappa*; 5-hydroxytryptamine; gut microbiota; short-chain fatty acids

肠易激综合征（irritable bowel syndrome，IBS）是一种无器质性疾病的功能性肠病，以腹痛或腹部不适伴排便习惯改变为特征，最常见的是腹泻型IBS（diarrhea-type irritable bowel syndrome，IBS-D）[1]。IBS的发病机制尚不完全清楚，目前认为IBS是胃肠动力异常、内脏感觉异常、脑-肠调节异常、炎症等多种因素共同作用的结果[2]。相关研究表明，肠道菌群失衡和有害细菌定植增加是IBS-D患者重要的发病机制和临床表现之一，也被认为是IBS-D患者内脏敏感性升高的原因[3]。也有研究表明，肠道菌群代谢产物短链脂肪酸（short-chain fatty acids，SCFAs）、胆汁酸等的变化可能参与了IBS的发病过程[4]。

5-羟色胺（5-hydroxytryptamine，5-HT）是脑-肠轴的关键神经递质和信号分子，90%～95%的5-HT由肠道产生，其中大部分由肠嗜铬细胞释放[5]。5-HT通过与多种5-HT受体结合发挥其生物学效应，其中5-HT3受体（5-HT3R）和5-HT4受体（5-HT4R）与IBS的发病机制密切相关[6]；同时，5-HT作用的强度和持续时间最终取决于5-HT失活的效率，由于细胞间降解酶相对缺乏，5-HT信号传导的终止几乎完全依赖于固有层中5-HT转运体（5-HT transporter，SERT），因为5-HT的再摄取主要由SERT将5-HT转运至细胞内，进而在细胞内被降解，其代谢产物则通过肾脏排出体外[7]。P物质（SP）是中枢神经系统的一种兴奋性神经递质，对肠道动力和敏感性有调节作用[8]。可见，5-HT和SP等物质介导的脑-肠轴对调节IBS肠道菌群具有重要作用。

中医治疗的方针是有机整体观念和辨证论治。组学技术能够从整体角度反映多因素作用下的器官功能和代谢状态，现已成为中药作用机制研究的有力工具。已有研究证实，生白术能有效改善便秘症状；木香性温，味辛、苦，具有行气调中、止痛、健脾的功效[9]。课题组前期研究也证实，香砂六君子汤中药效物质基础可能来源于白术、木香，可有效改善脾虚IBS-D模型大鼠的肠动力[10]。基于此，本研究根据香砂六君子汤原方中白术和木香的比例制备白术-木香药对水煎液，用其干预脾虚IBS-D模型大鼠，并基于5-HT和SP等物质介导的脑-肠轴，探讨白术-木香药对对该模型大鼠肠道菌群与SCFAs代谢的调节作用，以期为脾虚IBS-D的治疗提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有Thermo Trace 1300型气相系统、Thermo ISQ 7000型质谱仪（美国Thermo Fisher Scientific公司），FLx800型酶标仪（美国BioTek公司），MiSeq型测序仪（美国Illumina公司），BA210 Digital型数码三目摄像显微镜（麦克奥迪实业集团有限公司），JY-SCZ4^{+}型垂直电泳槽（北京君意东方电泳设备有限公司），5200 Multi型荧光图像分析系统（上海天能生命科学有限公司）。

1.2 主要药品与试剂

白术、木香、番泻叶药材均来自贵州中医药大学第二附属医院药剂科，经该科室主任中药师赵海鉴定为真品。匹维溴铵（批号32208002）购自北京福元医药股份有限公司；RIPA组织裂解液（批号P0013）购自上海碧云天生物技术有限公司；兔源5-HT3R、5-HT4R单克隆抗体（批号分别为BS-24700R、BS-12054R）均购自北京博奥森生物技术有限公司；兔源SERT、β-actin单克隆抗体（批号分别为A19110、AC026）均购自武汉爱博泰克生物科技有限公司；5-HT、SP酶联免疫吸附测定（ELISA）试剂盒（批号分别为ZC-35959、ZC-36170）均购自上海茁彩生物科技有限公司；乙醚（纯度≥99.5%）购自成都市科隆化学品有限公司；乙酸（纯度≥99%）、丙酸标准品（纯度≥99.5%）均购自美国Sigma公司；丁酸标准品（纯度≥99%）购自东京化成工业株式会社；其余试剂为实验室常用规格，水为超纯水。

1.3 实验动物

本研究所用动物为SD大鼠，6周龄，体重为（200±20）g，雌雄各半，购自成都达硕实验动物有限公司，动物生产许可证号为SCXK（川）2020-030。大鼠饲养环境温度为（25±2）℃，相对湿度为50%～60%，自由饮食。本实验经贵州中医药大学动物伦理委员会审批通过（批准号为20220104），动物使用许可证号为SYXK（黔）2021-0005。

2 方法

2.1 药液的制备

2.1.1 番泻叶水煎液

称取番泻叶300 g，加水1 500 mL，浸泡2 h，武火煮沸，文火煎煮10 min；过滤，浓缩，即得质量浓度为1 g/mL的番泻叶水煎液（以生药量计）。

2.1.2 白术-木香药对水煎液

根据香砂六君子汤原方中白术和木香的比例，称取白术12 g、木香4 g，先加入8倍量纯化水（mL/g，下同），以武火煮开后再以文火煎30 min，过滤，收集滤液；加入6倍量纯化水以武火煮开后再以文火煎煮20 min，过滤，收集滤液；合并2次滤液，在100 ℃水浴条件下进行浓缩，即得质量浓度为1.4 g/mL的白术-木香药对水煎液（以生药量计）。

2.2 分组、造模及给药

参考相关文献方法进行造模[11]：给40只SD大鼠灌胃番泻叶水煎液，给药体积为10 mL/kg，每日2次，连续14 d。大鼠每次灌胃番泻叶水煎液后，采取弹力绷带束缚其两前肢和肩背部，限制其上半身活动，持续2 h；束缚期间联合给予夹尾刺激（用止血钳夹大鼠尾部，刺激其产生抓咬、怒叫、站立弓背等反应），每次夹尾3～5 min。14 d后观察大鼠，当其出现食少纳呆、泄泻严重甚至脱肛等主要症状，以及消瘦、体重减轻、神态萎靡、四肢不收、毛色枯槁、蜷缩聚堆、易疲劳中的2项次要症状时，表明脾虚IBS-D造模成功。

取30只造模成功的大鼠，分为模型组和白术-木香药对低、中、高剂量组（0.7、1.4、2.8 g/kg，中剂量根据成人和大鼠的体表面积换算而得）以及阳性对照组（匹维溴铵1.5 mg/kg，剂量参考文献[12]设置），每组6只；另取6只健康大鼠作为空白对照组。空白对照组与模型组大鼠灌胃生理盐水，其余各组灌胃相应药液，每天1次，连续14 d。

2.3 大鼠一般状况观察及粪便含水量检测

记录各组大鼠给药后1、7、14 d的体重，并观察其腹泻程度、精神状态及进食状况。收集大鼠粪便样本，经恒温加热干燥至恒重后，计算粪便含水量。粪便含水量=（粪便干燥前质量－粪便干燥后质量）/粪便干燥前质量×100%。

2.4 大鼠肠道敏感性的检测

末次给药后，参考文献[13]的方法对大鼠进行腹壁撤退反射（abdominal withdrawal reflex，AWR）阈值测量，即记录各组大鼠出现腹部抬起和背部弓起反应的最小注水量（mL），每只大鼠测量3次取平均值，时间间隔为30 s。AWR阈值越高，表明其肠道敏感性越低。

2.5 大鼠肠道推进率的检测

末次给药后，大鼠禁食不禁水18 h，腹腔注射4%戊巴比妥钠进行麻醉，经腹主动脉采集血清样品后，取3只大鼠灌胃0.5 mL含5%黑色活性炭的半固体混悬液；30 min后处死，立即打开腹腔，分离肠系膜，截取从幽门至结肠末端的整段大小肠，直线平铺于白纸上，然后用直尺测量幽门至黑色活性炭前沿的距离以及至结肠末端的距离，并计算肠道推进率。肠道推进率=幽门至黑色活性炭前沿的距离/幽门至结肠末端的距离×100%。肠道推进率检测结束后，收集各大鼠结肠组织、粪便样品，并将剩余3只大鼠处死，同法收集上述样品。

2.6 大鼠血清中5-HT、SP水平的检测

取各组大鼠血清样品，按ELISA试剂盒说明书方法操作，检测大鼠血清中5-HT、SP水平。

2.7 大鼠结肠组织的病理学形态观察

取3只大鼠结肠组织置于4%多聚甲醛中固定，制作石蜡切片，经二甲苯脱蜡、梯度乙醇水合、苏木精-伊红染色、梯度乙醇脱水、二甲苯透明后，使用中性树胶封固，然后采用光学显微镜观察大鼠结肠组织的病理变化。

2.8 大鼠结肠组织中5-HT3R、5-HT4R、SERT蛋白表达水平的检测

采用Western blot法检测。取各组大鼠结肠组织适量进行总蛋白提取，使用BCA试剂盒定量组织中的蛋白浓度后，变性失活，在凝胶电泳下分离，转膜；使用5%脱脂牛奶室温封闭2 h，加入5-HT3R、5-HT4R、SERT、β-actin一抗（稀释度均为1∶1 000）置于4 ℃下孵育过夜，然后加入相应二抗室温孵育2 h；以TBST洗涤3次，采用ECL系统对蛋白条带进行显色，以目的蛋白与内参β-actin的灰度值比值表示目的蛋白的表达水平。

2.9 大鼠粪便的16S rRNA测序

取空白对照组、模型组和白术-木香药对高剂量组大鼠的粪便样本各适量，使用试剂盒对样本进行DNA提取与定量，扩增16S rRNA基因V3-V4区域，纯化回收，采用Illumina公司的TruSeq Nano DNA LT Library

Prep Kit制备测序文库，进行高通量测序分析。将测序数据进行序列去噪或操作分类单元（operational taxonomic units，OTU）聚类，选用Silva数据库（Release132版，http://www.arb-silva.de）进行物种分类学注释，然后进行物种分析与α多样性分析。本研究以Chao1和observed species指数表征群落丰度，以Shannon和Simpson指数表征群落多样性，并制作相关图表。

2.10 大鼠粪便中SCFAs含量的检测

取空白对照组、模型组和白术-木香药对高剂量组大鼠的粪便样本各适量，按照Han等[14]方法检测样本中乙酸、丙酸、丁酸的含量。

2.11 统计学方法

所有数据采用SPSS 22.0软件进行分析，数据以$\bar{x}\pm s$表示，多组间比较采用单因素方差分析，进一步组间两两比较采用LSD-t检验。检验水准$\alpha=0.05$。

3 结果

3.1 白术-木香药对对模型大鼠一般状况及粪便含水量的影响

与空白对照组比较，模型组大鼠给药7、14 d后的体重均显著降低（$P<0.01$），粪便含水量显著升高（$P<0.01$），同时出现严重腹泻、食欲减少、嗜睡、运动减少等症状；与模型组比较，各给药组大鼠给药7、14 d后的体重和粪便含水量（白术-木香药对低剂量组除外）均显著升高（$P<0.05$或$P<0.01$），腹泻缓解，精神状态恢复。结果见图1。

3.2 白术-木香药对对模型大鼠肠道敏感性和肠道推进率的影响

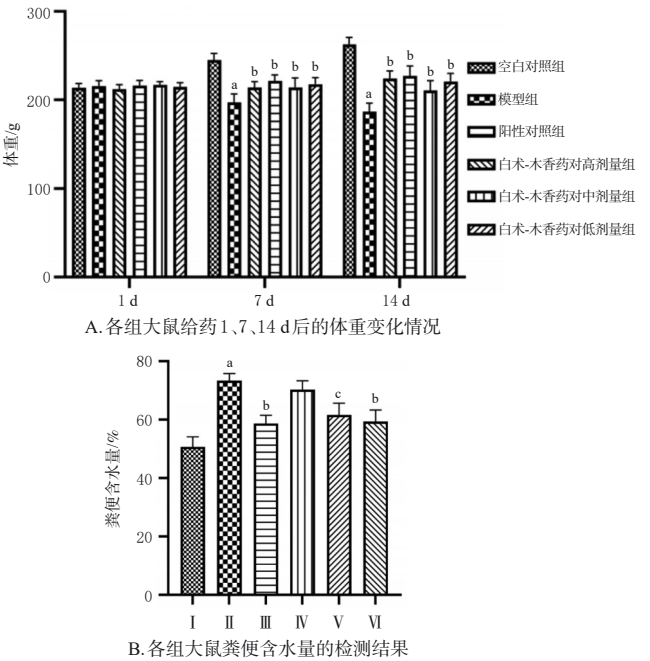
与空白对照组比较，模型组大鼠AWR阈值显著降低，肠道推进率显著升高（$P<0.01$）；与模型组比较，阳性对照组和白术-木香药对中、高剂量组大鼠AWR阈值均显著升高（$P<0.05$或$P<0.01$），肠道推进率（白术-木香药对中剂量组除外）均显著降低（$P<0.01$）。结果见图2。

3.3 白术-木香药对对模型大鼠血清中5-HT、SP水平的影响

与空白对照组比较，模型组大鼠血清中5-HT、SP水平均显著升高（$P<0.01$）；与模型组比较，白术-木香药对各剂量组大鼠血清中5-HT、SP水平均显著降低（$P<0.01$）。结果见图3。

3.4 白术-木香药对对模型大鼠结肠组织病理学形态的影响

空白对照组大鼠结肠组织黏膜层、黏膜下层、肌层及浆膜层结构较完整，固有层内肠腺排列整齐，无明显变性或坏死。模型组大鼠结肠黏膜固有层坏死，肠腺结构被破坏，坏死细胞结构模糊、细胞核固缩溶解，炎症

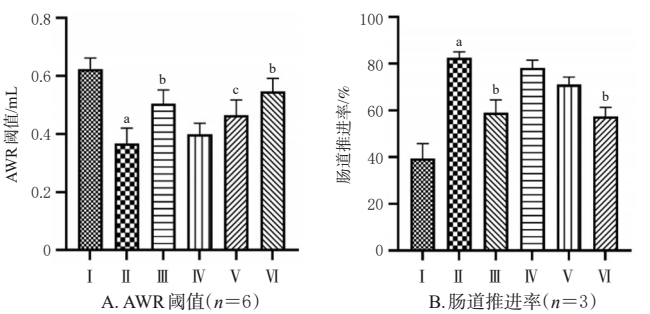


A.各组大鼠给药1、7、14 d后的体重变化情况

B.各组大鼠粪便含水量的检测结果

Ⅰ：空白对照组；Ⅱ：模型组；Ⅲ：阳性对照组；Ⅳ：白术-木香药对低剂量组；Ⅴ：白术-木香药对中剂量组；Ⅵ：白术-木香药对高剂量组；a：与空白对照组比较，$P<0.01$；b：与模型组比较，$P<0.01$；c：与模型组比较，$P<0.05$。

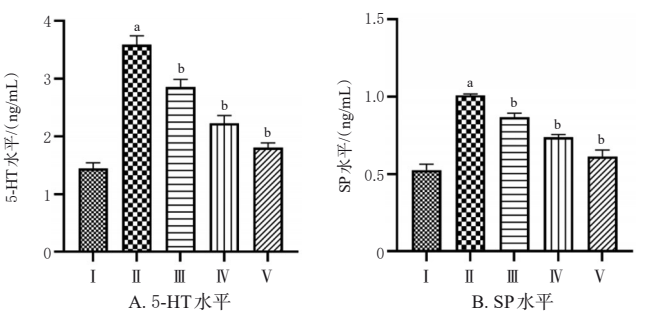
图1 各组大鼠体重变化及粪便含水量检测结果（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）



A. AWR阈值（$n=6$）　B.肠道推进率（$n=3$）

Ⅰ：空白对照组；Ⅱ：模型组；Ⅲ：阳性对照组；Ⅳ：白术-木香药对低剂量组；Ⅴ：白术-木香药对中剂量组；Ⅵ：白术-木香药对高剂量组；a：与空白对照组比较，$P<0.01$；b：与模型组比较，$P<0.01$；c：与模型组比较，$P<0.05$。

图2 各组大鼠AWR阈值和肠道推进率的检测结果

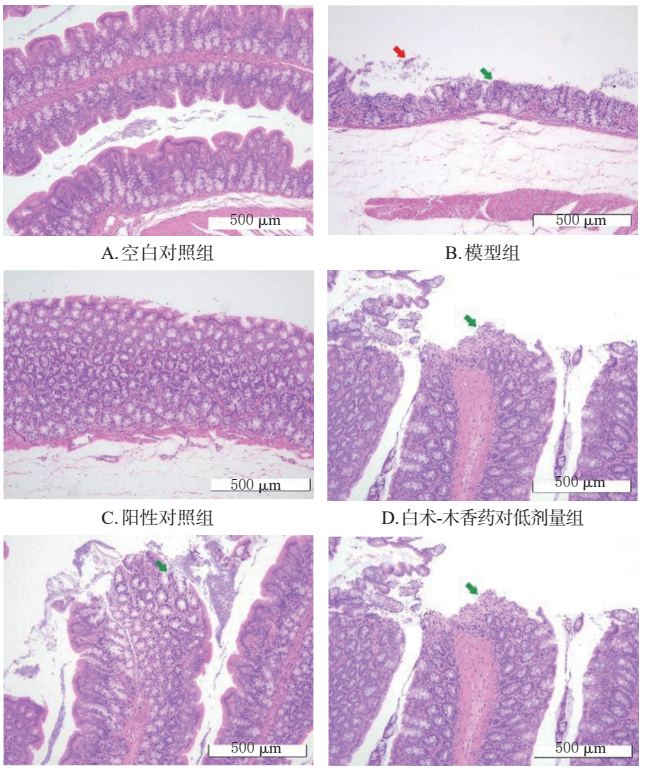


A. 5-HT水平　B. SP水平

Ⅰ：空白对照组；Ⅱ：模型组；Ⅲ：白术-木香药对低剂量组；Ⅳ：白术-木香药对中剂量组；Ⅴ：白术-木香药对高剂量组；a：与空白对照组比较，$P<0.01$；b：与模型组比较，$P<0.01$。

图3 各组大鼠血清中5-HT、SP水平的检测结果（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

细胞浸润严重。各给药组大鼠结肠组织部分结构恢复，但仍有炎症细胞浸润和黏膜变性坏死的情况。结果见图4。



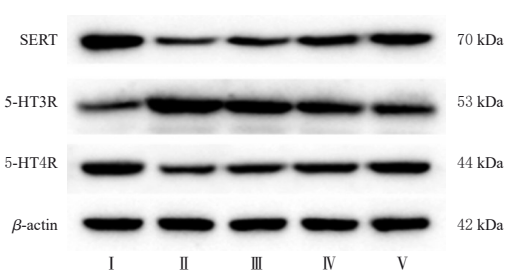
A.空白对照组　B.模型组　C.阳性对照组　D.白术-木香药对低剂量组　E.白术-木香药对中剂量组　F.白术-木香药对高剂量组

注：红色箭头表示组织脱落，绿色箭头表示黏膜层变性坏死。

图4　各组大鼠结肠组织病理学形态的观察结果（HE染色）

3.5　白术-木香药对对模型大鼠结肠组织中5-HT3R、5-HT4R、SERT蛋白表达的影响

与空白对照组比较，模型组大鼠结肠组织中5-HT3R蛋白表达水平显著升高（$P<0.01$），5-HT4R、SERT蛋白表达水平均显著降低（$P<0.01$）；与模型组比较，白术-木香药对各剂量组大鼠结肠组织中5-HT3R蛋白表达水平均显著降低（$P<0.01$），5-HT4R（白术-木香药对低剂量组除外）、SERT蛋白表达水平均显著升高（$P<0.05$或$P<0.01$）。结果见图5、表1。



Ⅰ：空白对照组；Ⅱ：模型组；Ⅲ：白术-木香药对低剂量组；Ⅳ：白术-木香药对中剂量组；Ⅴ：白术-木香药对高剂量组。

图5　各组大鼠结肠组织中5-HT3R、5-HT4R、SERT蛋白表达的电泳图

表1　各组大鼠结肠组织中5-HT3R、5-HT4R、SERT蛋白表达水平的检测结果（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

组别	5-HT3R	5-HT4R	SERT
空白对照组	1.00±0.12	1.00±0.25	1.00±0.09
模型组	4.13±0.12[a]	0.33±0.08[a]	0.21±0.03[a]
白术-木香药对低剂量组	3.22±0.43[b]	0.49±0.08	0.38±0.05[b]
白术-木香药对中剂量组	2.44±0.32[c]	0.67±0.15[b]	0.58±0.09[c]
白术-木香药对高剂量组	1.64±0.30[c]	0.83±0.15[c]	0.76±0.08[c]

a：与空白对照组比较，$P<0.01$；b：与模型组比较，$P<0.05$；c：与模型组比较，$P<0.01$。

3.6　白术-木香药对对模型大鼠肠道菌群与SCFAs代谢的影响

在科水平上，空白对照组大鼠肠道菌群中乳酸杆菌科（Lactobacillaceae）、S24_7菌科（S24_7）、瘤胃球菌科（Ruminococcaceae）和毛螺菌科（Lachnospiraceae）相对丰度分别为30.3%、17.1%、11.3%和4.3%，模型组中上述菌科相对丰度分别为33.6%、20.8%、9.8%和11.9%，白术-木香药对高剂量组中上述菌科相对丰度分别为41.5%、16.7%、5.2%和10.0%。由此可知，3组大鼠粪便均以乳酸杆菌科和S24_7菌科相对丰度较高，经白术-木香药对干预后，大鼠粪便中上述菌科相对丰度变化较大。结果见图6。

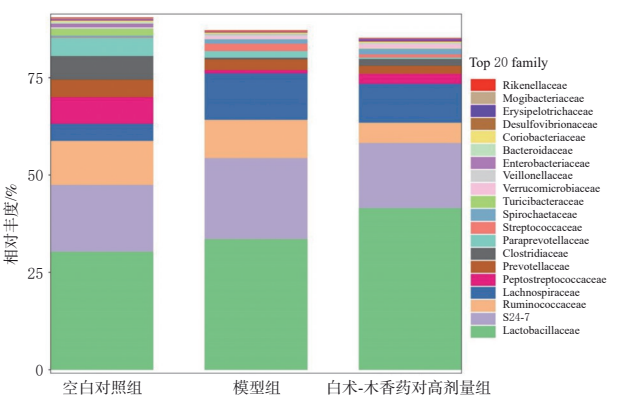


图6　各组大鼠粪便中科水平排名前20的菌群分布

α多样性分析结果显示，与空白对照组比较，模型组Chao1指数、observed species指数均显著升高（$P<0.05$），Shannon指数、Simpson指数的差异无统计学意义（$P>0.05$）；与模型组比较，白术-木香药对高剂量组Chao1指数、observed species指数、Shannon指数、Simpson指数均显著降低（$P<0.05$）。结果见表2。

表2　各组大鼠α多样性分析的结果（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

组别	Chao1指数	observed species指数	Shannon指数	Simpson指数
空白对照组	625.61±49.50	565.13±23.18	6.84±0.04	0.97±0.01
模型组	799.41±28.35[a]	702.07±34.33[a]	7.25±0.16	0.97±0.01
白术-木香药对高剂量组	632.65±114.02[b]	560.30±109.72[b]	6.61±0.35[b]	0.95±0.01[b]

a：与空白对照组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$。

与空白对照组比较，模型组大鼠粪便中乙酸、丙酸、丁酸含量差异无统计学意义（$P>0.05$）；与模型组比较，

白术-木香药对高剂量组大鼠粪便中丁酸含量显著降低（$P<0.05$），乙酸、丙酸含量差异无统计学意义（$P>0.05$）。结果见表3。

表3　各组大鼠粪便中SCFAs含量的检测结果（$\bar{x}\pm s$，$n=6$，μg/g）

组别	乙酸	丙酸	丁酸
空白对照组	3 561.73±791.92	1 143.55±241.67	2 914.82±937.10
模型组	3 018.50±322.94	1 156.94±190.50	2 902.64±584.89
白术-木香药对高剂量组	2 470.01±290.27	1 050.82±161.38	1 394.83±529.95[a]

a：与模型组比较，$P<0.05$。

4　讨论

脾虚IBS-D是临床常见的肠道疾病，此类患者存在体重下降、腹泻等症状[15]。白术具有健脾益气、燥湿利水的功效，为治疗脾胃气虚证常用药[15]；木香具有行气止痛、健脾消食的功效，为治疗脾胃气滞证常用药[16]；二者联合配伍，可改善脾气虚衰、脾胃运化功能失调的情况。本研究结果发现，经白术-木香药对干预后，大鼠体重增加，腹泻缓解，精神状态恢复，肠道敏感性降低，结肠组织部分结构恢复，表明该药对可改善脾虚IBS-D模型大鼠症状。

5-HT是肠功能的重要介质，在IBS中发挥特殊的作用[17]。5-HT受体中5-HT3R的主要作用是促进肠道收缩、肠液分泌和内容物运输；5-HT4R的主要作用是缓解消化不良，改善胃食管反流病、胃轻瘫或IBS[18]。SP具有调节肠道蠕动的作用，但是其异常分泌则会导致肠道平滑肌兴奋过度，引起腹泻[8]。本研究结果显示，经白术-木香药对干预后，大鼠血清中5-HT、SP水平均降低，5-HT3R蛋白表达水平降低，5-HT4R、SERT蛋白表达水平均升高。这提示，白术-木香药对可通过调节5-HT及其受体的表达，改善脾虚IBS-D模型大鼠症状。

相关研究发现，焦虑IBS-D大鼠经过治疗后肠道中乳酸杆菌的数量会增加[19]。本研究结果发现，经白术-木香药对干预后，脾虚IBS-D模型大鼠肠道中乳酸杆菌相对丰度增加，且其对S24_7等拟杆菌的相对丰度具有一定调节作用，这提示白术-木香药对对脾虚IBS-D模型大鼠肠道中乳酸杆菌与拟杆菌具有特异性调节作用。Chao1数值越高反映出细菌物种越多，observed species数值越高表明细菌物种的相对丰度越高，Shannon指数和Simpson指数则是衡量细菌物种多样性的相关指标[20]。本研究结果显示，白术-木香药对可降低脾虚IBS-D模型大鼠肠道菌群的多样性与物种数量，从而减少因细菌引起的病症。

除了肠道菌群的影响，其代谢产物SCFAs的变化也会影响IBS的发病过程。相关研究发现，SCFAs（主要是乙酸和丁酸）可促进5-HT的分泌和释放，诱发蠕动反射，从而增强结肠收缩，加快结肠传输速度，然后导致腹泻发生率升高[21]。本研究结果显示，经白术-木香药对干预后，脾虚IBS-D模型大鼠粪便中丁酸含量降低，但是乙酸、丙酸含量变化不大。这可能是由于肠道菌群的变化未能引起大规模SCFAs分泌异常，因此，SCFAs的变化有可能是肠道菌群与5-HT等共同作用的结果，也有可能与肠道中瘤胃球菌科和毛螺菌科相对丰度降低导致SCFAs合成减少有关。

综上所述，白术与木香配伍可以改善脾虚IBS-D模型大鼠的肠道动力及肠道敏感性，并缓解腹泻，这可能与改善肠道菌群结构变化，降低5-HT表达和丁酸含量以及升高5-HT4R、SERT表达有关。

参考文献

[1] OKA P，PARR H，BARBERIO B，et al. Global prevalence of irritable bowel syndrome according to Rome Ⅲ or Ⅳ criteria：a systematic review and meta-analysis[J]. Lancet Gastroenterol Hepatol，2020，5(10)：908-917.

[2] LIU J，PENG R，TAN Q，et al. Proteomic analysis of rat colonic mucosa following acupuncture treatment for irritable bowel syndrome with diarrhea[J]. PLoS One，2022，17(9)：e0273853.

[3] PALMA G D，LYNCH M D，LU J，et al. Transplantation of fecal microbiota from patients with irritable bowel syndrome alters gut function and behavior in recipient mice [J]. Sci Transl Med，2017，9(379)：eaaf6397.

[4] SHAIDULLOV I F，SOROKINA D M，SITDIKOV F G，et al. Short chain fatty acids and colon motility in a mouse model of irritable bowel syndrome[J]. BMC Gastroenterol，2021，21(1)：37.

[5] ZHOU S Y，GILLILLAD M，WU X Y，et al. FODMAP diet modulates visceral nociception by lipopolysaccharide-mediated intestinal inflammation and barrier dysfunction [J]. J Clin Invest，2018，128(1)：267-280.

[6] VAHORA I S，TSOUKLIDIS N，KUMAR R，et al. How serotonin level fluctuation affects the effectiveness of treatment in irritable bowel syndrome[J]. Cureus，2020，12(8)：e9871.

[7] BERTRAND P P，BERTRAND R L. Serotonin release and uptake in the gastrointestinal tract[J]. Auton Neurosci，2010，153(1/2)：47-57.

[8] 杨梅，李玉先，刘欢. 基于脑-肠互动轴探讨温胃调肠颗粒干预腹泻型肠易激综合征的机制分析[J]. 中药药理与临床，2019，35(6)：106-110.
YANG M，LI Y X，LIU H. Mechanism of Wenwei tiao-

chang granule on intervening diarrhea predominant-irritable bowel syndrome based on brain-gut axis[J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med，2019，35(6)：106-110.

[9] 李晓宇，赵刚，刘鹏林，等. 白术内酯Ⅰ对慢传输型便秘模型大鼠肠道菌群影响[J]. 青岛大学学报（医学版），2023，59(2)：216-220.
LI X Y，ZHAO G，LIU P L，et al. Effect of atractylenolide Ⅰ on intestinal flora in rats with slow transit constipation [J]. J Qingdao Univ Med Sci，2023，59(2)：216-220.

[10] 黎豫川. 香砂六君子汤治疗脾虚腹泻型肠易激综合征药效物质基础研究[D]. 成都：成都中医药大学，2014.
LI Y C. Study on the material basis of the efficacy of Xiangsha liujunzi decoction in treating irritable bowel syndrome with spleen deficiency and diarrhea[D]. Chengdu：Chengdu University of TCM，2014.

[11] 朱佳杰. 脾肾阳虚型IBS-D大鼠模型探索及温肾健脾方干预CRF信号通路的机制研究[D]. 北京：北京中医药大学，2018.
ZHU J J. Exploration of IBS-D rat model with spleen-kidney Yang deficiency and study on the mechanism of Wenshen jianpi recipe intervening CRF signal pathway [D]. Beijing：Beijing University of Chinese Medicine，2018.

[12] 陈小芬，张馨月，张涛，等. 基于脑-肠轴的疏肝健脾方对IBS-D大鼠结肠-下丘脑-垂体CREB、NGF、BDNF的影响[J]. 时珍国医国药，2022，33(2)：317-323.
CHEN X F，ZHANG X Y，ZHANG T，et al. Effects of Shugan jianpi decoction on CREB，NGF and BDNF in colon hypothalamus pituitary of IBS-D rats based on brain-gut axis[J]. Lishizhen Med Mater Med Res，2022，33(2)：317-323.

[13] 张洋. 加味柴芍六君汤不同给药方式对肝郁脾虚型IBS-D模型大鼠的疗效对比研究[D]. 泸州：西南医科大学，2020.
ZHANG Y. Different prescriptions of Jiawei chaishao liujun tang comparative study on the effect of liver depression and spleen deficiency model IBS-D rat[D]. Luzhou：Southwest Medical University，2020.

[14] HAN X，GUO J L，YOU Y L，et al. A fast and accurate way to determine short chain fatty acids in mouse feces based on GC-MS[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci，2018，1099：73-82.

[15] XIE Y，ZHAN X，TU J Y，et al. Atractylodes oil alleviates diarrhea-predominant irritable bowel syndrome by regulating intestinal inflammation and intestinal barrier via SCF/c-kit and MLCK/MLC2 pathways[J]. J Ethnopharmacol，2021，272：113925.

[16] 贡钰霞，王浩，侯毅，等. 大剂量生白术配伍枳实对慢传输型便秘大鼠结肠5-HT3R、5-HT4R表达的影响[J]. 中国中西医结合杂志，2019，39(8)：988-992.
GONG Y X，WANG H，HOU Y，et al. Effects of high-dose raw Rhizoma Atractylodis Macrocephala combined with Fructus Aurantii Immaturus on the expression of 5-HT3R and 5-HT4R in colon of rats with slow transit constipation[J]. Chin J Integr Tradit West Med，2019，39(8)：988-992.

[17] 陈青垚，王梁凤，李慧婷，等. 含丁香方剂的数据挖掘及其治疗腹泻的作用机制分析[J]. 中国实验方剂学杂志，2021，27(5)：158-170.
CHEN Q Y，WANG L F，LI H T，et al. Data mining of Caryophylli Fols-containing formula and analysis of its mechanism in treatment of diarrhea[J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae，2021，27(5)：158-170.

[18] SHEN J，ZHANG B M，CHEN J J，et al. SAHA alleviates diarrhea-predominant irritable bowel syndrome through regulation of the p-STAT3/SERT/5-HT signaling pathway [J]. J Inflamm Res，2022，15：1745-1756.

[19] 吴帆，李佳，吴松，等. “标本配穴”针刺法对腹泻型肠易激综合征焦虑模型大鼠焦虑样行为及肠道菌群的影响[J]. 中医杂志，2023，64(8)：841-847.
WU F，LI J，WU S，et al. Effect of Biaoben acupoints combination needling on anxiety-like behavior and gut flora in model rats of irritable bowel syndrome with predominant diarrhea and anxiety[J]. J Tradit Chin Med，2023，64(8)：841-847.

[20] 余凌英，李星，蔡平君，等. 干姜和炮姜对脾胃虚寒型胃溃疡大鼠药效学指标及肠道菌群的影响[J]. 中国药房，2022，33(20)：2460-2465.
YU L Y，LI X，CAI P J，et al. Effects of *Zingiber officinale* and processed *Zingiber officinale* on pharmacodynamic indexes and intestinal flora on gastric ulcer rats with spleen-stomach deficiency and cold type[J]. China Pharm，2022，33(20)：2460-2465.

[21] YANO J M，YU K，DONALDSON G P，et al. Indigenous bacteria from the gut microbiota regulate host serotonin biosynthesis[J]. Cell，2015，161(2)：264-276.

（收稿日期：2023-07-18　修回日期：2023-12-18）
（编辑：唐晓莲）